

**CHYBY A OMYLY V ONKOGENETIKE KARCINÓMU PRSNÍKA
A PLATNÉ INDIKAČNÉ KRITÉRIÁ
ERRORS AND MISCONCEPTIONS IN ONCOGENETICS OF BREAST CANCER
AND VALID INDICATION CRITERIA**

COPÁKOVÁ Lucia

GenVias s.r.o. – diagnostické centrum lekárskej genetiky, Bratislava

ABSTRAKT

Ročne je v SR diagnostikovaných 3000 nových prípadov karcinómu prsníka. Stále viac z týchto novodiagnostikovaných karcinómov pripadá na mladé ženy, ktoré predtým v rodine nemali potvrdený výskyt onkologického ochorenia. Zarážajúcim faktorom je, že mnohé pacientky s karcinómom prsníka alebo vaječníkov majú podľa platných indikačných kritérií nárok na genetickú analýzu, ale ošetrujúci špecialista ich na genetickú konzultáciu neodporúči. Indikačné kritériá pre testovanie dedičného karcinómu prsníka a vaječníkov, platné pre Slovenskú republiku, prešli svojím vývojom a v dnešnej podobe definujú tri skupiny pacientov s nárokom na genetické vyšetrenie. Prvým závažným omylom v problematike dedičného karcinómu prsníka je nepravdivá informácia, že na ženy bez pozitívnej rodinnej anamnézy sa nevzťahuje riziko hereditárnej formy karcinómu. Druhým závažným omylom pri testovaní familiárnej formy karcinómu prsníka je, že význam má len genetická analýza vybraných dvoch génov *BRCA1*, *BRCA2*. Tretím závažným omylom je, že samotné vyšetrenie trvá štandardne viac ako 6 mesiacov.

Kľúčové slová: Indikačné kritériá. Tri skupiny pacientov. Panel génov. Časový interval genetickej analýzy. Päť typov variantov

ABSTRACT

Approximately 3000 new cases of breast cancer are diagnosed in the Slovak Republic every year. Increasing number of these newly diagnosed carcinomas are among young women with no previously confirmed oncological disease in the family. Surprisingly, many patients with breast or ovarian carcinoma are entitled to genetic analysis in line with valid indication criteria; however, the respective specialist does not recommend them for genetic consultations. Concerning Slovak Republic, the indication criteria for testing of breast and ovarian carcinoma have been developing and currently comprise three groups of patients eligible for genetic testing. The first significant mistake regarding the issue of hereditary breast cancer is the false assumption that women without a positive family history are not at risk of hereditary form of carcinoma. The second important mistake concerning testing of familial form of breast cancer is that genetic analysis of only two selected genes (*BRCA1*, *BRCA2*) is relevant. The third crucial mistake is that the examination normally takes more than 6 months.

Key words: Indication criteria. Three groups of patients. Gene panel. Time interval of genetic analysis. Five types of variants

ÚVOD

Genetika má v súčasnosti široké pole svojho pôsobenia, je neodmysliteľnou súčasťou správnej komplexnej diagnostiky a ďalšieho manažmentu pacientov. Okrem prediktívneho testovania, zameraného na selekciu jedincov vo vysokom riziku, umožňuje vo vybraných prípadoch definovať optimalizované liečebné postupy cestou tzv. personalizovanej liečby.

Prediktívne testovanie a úloha lekárskeho genetika

V prípade prediktívneho testovania je kľúčové zapojenie interdisciplinárnej spolupráce a odoslanie pacienta do ambulancie lekárskej genetiky. Úloha lekárskeho genetika je definovaná v Koncepcii odboru lekárska genetika [1-3]. Lekársky genetik uskutočňuje včasný záchyt geneticky podmienených stavov, vrátane hereditárne podmienených malignít a identifikuje prenášačov v rodinách. Poskytuje genetické konzultácie so stanovením genetickej prognózy. Konzultuje najvhodnejší spôsob manažmentu geneticky determinovaného ochorenia, navrhuje optimálny dispenzarizačný plán a liečbu s cieľom redukcie rizika jednotlivých dedične podmienených ochorení.

Ťažiskom genetickej konzultácie je interaktívny rozhovor s pacientom. Lekár – genetik indikuje na základe osobnej a rodinnej anamnézy, vypracovanej genealógie a posúdenia fenotypu, vhodný typ laboratórnych testov.

Výsledkom predanalytickej genetickej konzultácie, ktorá je spojená s podpísaním informovaného súhlasu pacienta o genetickom testovaní, je odber periférnej krvi určenej na analýzu DNA.

Postanalytickú fázu prediktívneho testovania predstavuje opäť konzultácia výsledku genetického vyšetrenia klinickým genetikom a vypracovanie záverečnej lekárskej správy s odporúčaním celoživotných sledovaní, prípadných profylaktických chirurgických zákrokov.

The American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) vypracovalo štandardné postupy a odporúčania pre záverečnú interpretáciu výstupov z genetickej analýzy sekvenčných variantov [4]. V novej terminológii sekvenčných variantov sa vyskytuje definícia piatich tried (obrázok 1).

Nová éra testovania formou sekvenovania druhej generácie – NGS, ktorá so sebou priniesla možnosti testovania panelu génov, exómu, genómu prípadne transkriptómu ide ruka v ruke s výzvou, čo najlepšej a najpresnejšej interpretácie nájdených genetických zmien – variantov, na základe dostupných informácií. Nález variantov s neznámym klinickým významom so sebou v mnohých smeroch prináša interpretačné rozpaky [5, 6]. Odborné odporúčania definujú potrebu pravidelného prehodnocovania týchto variantov s časovým odstupom a možnosťou ich rekvifikácie do skupiny IV/V alebo I/II. Okrem štandardne využívaných databáz HGMD, HGVS, ClinVar, NCBI je v mnohých prípadoch nevyhnutné využitie *in silico* prediktívnych softvérov SIFT, MutationTaster, PolyPhen-2 ako aj segregáčnej analýzy rodinných príslušníkov [4].

Karcinóm prsníka a kandidátne gény

V oblasti dedičného karcinómu prsníka sa rozšíril okruh kauzálnych génov asociovaných s patologickým fenotypom karcinómu prsníka. Do tejto skupiny patria gény vysokého, stredného rizika a nízkeho rizika.

Podľa európskeho konsenzu panelu expertov pre testovanie génov spojených s karcinómom prsníka by mala genetická analýza obsahovať výstup zo všetkých kódujúcich sekvencií génov *BRCA1*, *BRCA2*, *TP53*, *PTEN*, *PALB2*, *STK11*, *ATM*, *CHEK2*, *CDH1*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *BRIP1*, *RAD51D*, *RAD51C* (1). Vyšetrenie takzvaných hot-spot najčastejších mutácií vybraných génov, charakteristických pre určité geografické oblasti nie je



Obrázok 1 Klasifikácia sekvenčných variantov

vôbec odporúčaná. Zlatým štandardom korektnej genetickej analýzy je testovanie všetkých kódujúcich exónových oblastí a príslušných intrónov.

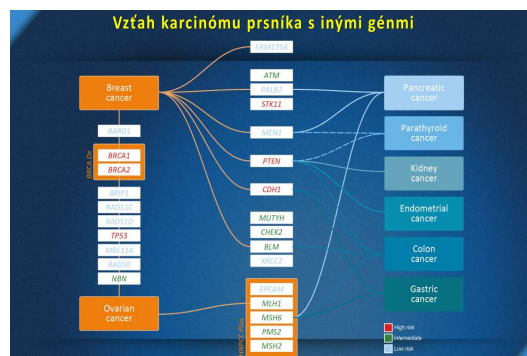
Karcinóm prsníka môže byť súčasťou aj iných syndrémov okrem syndrómu HBOC – Dedičného karcinómu prsníka a vaječníkov. Môže vznikáť na podklade zárodočnej mutácie v rôznych vysokorizikových génoch, napríklad v géne *CDH1*. Tento gén je kauzálnym génom pri syndróme HDGC - hereditárnej forme difúzneho karcinómu žalúdka [7]. Mutácia v géne *PTEN*, je spojená s Cowdenovým syndrómom a okrem iných fenotypových prejavov tiež s rizikom vývinu karcinómu prsníka (obrázok 2) [8].

Li Fraumeni syndróm podkladom, ktorého je germinatívna mutácia v *TP53* géne, máva v spektre onkologických ochorení výskyt akútneho leukémií, agresívnych typov lymfómov, sarkómov, nádorov mozgu, ale aj karcinóm prsníka [9].

Správny postup pri laboratórnej diagnostike, ktorá využíva metódu sekvenovania druhej generácie NGS je overenie každého nájdeného variantu zo skupiny III., IV., V. formou priameho Sangerovho sekvenovania. Pri pozitívnych nálezoch CNV analýz je za zlatý štandard považovaná mutation-ligand probe amplification – MLPA analýza, pokiaľ je komerčne dostupná. Kombinácia týchto metód zaručuje eradikáciu falošne pozitívnych nálezov, ktoré sa môžu pri NGS a CNV analýze vyskytnúť.

Prognózy nositeliek mutácie v *BRCA1*, *BRCA2* géne a odporúčaný manažment

Prognózy pacientok – nositeliek mutácie v génoch *BRCA1* alebo *BRCA2* sú definované najmä pre celoživotné riziko karcinómu prsníka a vaječníkov. Aj napriek oveľa nižšiemu riziku ovariálneho karcinómu v porovnaní s karcinómom prsníka je v po-



Obrázok 2 Karcinóm prsníka versus vybrané gény

predí potreba preventívnej adnexektómie najneskôr do veku 35-40 rokov. U nositeľiek *BRCA1* mutácie je táto veková hranica odvodená od prudko rastúceho rizika vývinu ovariálneho karcinómu v rozmedzí 35.-40. roku života. Celkové riziko vzniku ovariálneho karcinómu je v prípade *BRCA1* pozitívnosti na úrovni 40-60 %. Nositeľky *BRCA2* mutácie majú celoživotné riziko karcinómu vaječníkov na úrovni 10-30 %, s prudko stúpajúcim trendom vývinu ovariálneho karcinómu približne od 50. roku života [10]. Karcinómy vaječníkov u žien s potvrdenou mutáciou majú agresívnejší priebeh spojený s rýchlym rastom a častokrát s normálnym klinickým nálezom [11].

Štandardné *dispenzarizačné gynekologické schémy* zahŕňajúce polročný odber onkomarkera CA125 nie sú postačujúce. Tento interval sledovania CA125 nestačí pri záchyťe ovariálneho karcinómu. Pri intervaloch odberu CA125 v rozmedzí 4 mesiacov bola zaznamenaná vyššia senzitivita záchyťu karcinómu vaječníkov [12, 13]. V kombinácii so sledovaním pomocou expertného onkogynekologického ultrazvuku – high-end ultrazvok s multifrekvenčnými sondami – vaginálnou transabdominálnou a lineárnou skúseným sonografistom je možné dosiahnuť, čo najpresnejší záchyť gynekologických tumorov [14].

Časové intervaly sledovania po profylaktickej adnexektómii sú voľnejšie. Odporúčané je absolvovať ročné gynekologické vyšetrenie, ročný expertný onkogynekologický ultrazvuk, štandardný skrining cervikálneho karcinómu (v prípade zachovania maternice). Pred operáciou a rok po operácii je pacientkám indikované denzitometrické vyšetrenie s nastavením ďalšieho sledovania podľa kostného nálezu a odporúčania osteológa. Nositeľky *BRCA2* mutácie, u ktorých bola realizovaná profylaktická bilaterálna mastektómia môžu podstúpiť bilaterálnu adnexektómiu o čosi neskôr ako nositeľky mutácie *BRCA1* génu a to vo veku 45-50 rokov [15].

U žien s potvrdenou mutáciou v *BRCA1* a *BRCA2* géne a karcinómom prsníka je stále častejšie diskutovaná aj otázka benefitov profylaktickej hysterektómie. Profylaktická hysterektómia môže byť zvažovaná aj v dôsledku vyššieho rizika vývinu endometriálneho karcinómu u nositeľiek mutácie a zároveň ako prevencia nežiadúcich účinkov liečby tamoxifenu [16]. Na opačnom protipóle prečo hysterektómiu nerealizovať môže byť nižšia kvalita života po operácii vyplývajúca z možnej inkontinencie a ovplyvnenia sexuálnych funkcií.

Trojicu profylaktických chirurgických zákrokov uzatvára profylaktická mastektómia. V prípade tohto chirurgického zákroku panuje všeobecná zhoda za radikálnu výkonu a to nielen v prípade ak je žena nositeľkou mutácie v *BRCA1* a *BRCA2* géne [17]. U žien s novodiagnostikovaným karcinómom prsníka, ktoré boli dodatočne indikované na genetickú analýzu a výsledok potvrdil prítomnosť mutácie je profylaktická kontralaterálna mastektómia jednoznačne indikovaným výkonom. Riziko vzniku kontralaterálneho karcinómu prsníka u *BRCA1* a *BRCA2* nositeľiek, stúpa v horizonte najbližších 20 rokov od stanovenia diagnózy karcinómu približne o 40 % [18].

Dispenzarizačné schéma prsníkov pre nositeľky mutácie BRCA1/BRCA2:

- samovyšetrenie prsníkov od 18 roku života,
- klinické vyšetrenie prsníkov v odbornej ambulancii polročne,
- od 25 roku života MRI a USG prsníkov polročne (v prípade výskytu skorého Ca prsníka, sledovanie začať o 10 rokov skôr ako bol diagnostikovaný karcinóm u najmladšej príbuznej),
- od 30 roku – do 65 roku života MRI a MG, strieďať každých 6 mesiacov (MG ročne od 30 roku života – určuje rádiodiagnostik podľa typu prsnej žľazy),
- od veku 65 rokov: MG a USG každých 6 mesiacov.

Vo veku 25 a 30 rokov je odporúčaná vstupná mamografia s cieľom posúdenia prípadne potvrdenia mikrokalcifikátov (jedna šikmá MLO projekcia na každý prsník). MRI realizovať medzi 7. a 17. dňom menštruačného cyklu.

Pre nositeľky mutácie *BRCA1/2*, u ktorých bol diagnostikovaný karcinóm prsníka a ukončili liečbu je dispenzarizačné schéma identická ako pre zdravé nositeľky mutácie [19].

Indikačné kritériá platné pre Slovenskú republiku

Aktualizovaná verzia odborného usmernenia Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky o štandardizácii genetickej diagnostiky syndrómu hereditárneho karcinómu prsníka a ovárií je k dispozícii na stránke Slovenskej spoločnosti lekárskej genetiky SSLG v sekcii Dokumenty.

V odbornom usmernení sú definované 3 skupiny pacientov s nárokom na genetickú analýzu génov *BRCA1*, *BRCA2*:

1. *skupina*: jedinec s verifikovaným karcinómom prsníka a/alebo ovárií, ak pochádza z rodiny, kde sa vyskytujú:

- 3 a viac príbuzných s karcinómom prsníka a /alebo ovária v jednej príbuzenskej línii (bilaterálny karcinóm je považovaný za dva prípady),
- 2 príbuzní prvého alebo druhého stupňa s karcinómom prsníka ak aspoň u jedného bol diagnostikovaný do dovŕšenia 50. roku veku, alebo prsníka a ovária bez ohľadu na vek,
- 1 príbuzný s karcinómom prsníka do dovŕšenia 50. roku života alebo karcinómu ovária bez ohľadu na vek a ďalší príbuzný s HBOC asociovaným tumorom (karcinóm hrubého čreva a konečníka, pankreasu, prostaty, maternice, malígný melanóm),
- pacient s karcinómom prostaty s vysokým Gleason skóre (nad 7) a jeden príbuzný s karcinómom ovária alebo karcinómom prsníka do dovŕšenia 50 rokov veku alebo s viacerými príbuznými s karcinómom prsníka, prostaty a pankreasu bez ohľadu na vek,

2. *skupina* pacientov s verifikovaným karcinómom prsníka, ovárií alebo prostaty bez rodinnej anamnézy, ak spĺňa aspoň jedno z uvedených kritérií a bol u nich zistený:

- karcinóm prsníka do dovŕšenia 45. roku veku,
- obojstranný karcinóm prsníka, prvé ochorenie do dovŕšenia 50. roku veku,
- invazívny serózný karcinóm ovária / tuby / primárny peritoneálny karcinóm,
- medulárny a atypický medulárny karcinóm prsníka do dovŕšenia 60. roku veku,
- karcinóm prsníka s triple negativitou (negativita receptorov ER, PR a HER2) do 60. roku veku,
- duplicitný výskyt karcinómu prsníka a ovária,
- duplicitný výskyt karcinómu prsníka a pankreasu,
- karcinóm prsníka u muža.

3. *skupina*: asymptomatickí jedinci, ak pochádzajú z rodiny:

- s viacnásobným výskytom karcinómu prsníka (Clausove riziko nad 25 %),
- s I. stupňovou príbuznou s duplexným výskytom karcinómu prsníka a ovária,

- s dvomi príbuznými I. stupňa (v paternálnej línii aj druhého stupňa) s karcinómom ovária,
- otec alebo brat s karcinómom prsníka a ďalší príbuzný I. či II. stupňa má karcinóm prsníka.

Indikačné kritériá pre testovanie *BRCA1,2* génov prešli svojím vývinom od jednej veľkej zmiešanej skupiny kritérií k trom skupinám zahŕňajúcim jedincov vo vysokom riziku. Aktuálne platná verzia z decembra 2017 rozšírila možnosť testovania o sporadické typy karcinómov prsníka bez pozitívnej rodinnej anamnézy až do veku 60 rokov [20].

ZÁVER

Nárast potreby genetických vyšetrení spolu so zvyšovaním celkového počtu jedincov spadajúcich do platných indikačných kritérií pre genetickú analýzu so sebou priniesol tlak na zlepšovanie diagnostiky a skracovanie samotného času genetického vyšetrenia. Pozitívne nálezy majú konkrétny dopad na schémy celoživotných sledovaní. V prípade už potvrdených karcinómov vplýva pozitívny výsledok aj na celkový rozsah a radikalitu chirurgických operácií. Práve preto potrebujú pacientky s novodiagnostikovanými karcinómami ženských orgánov ú informáciu o výsledku testovania v čo najkratšom čase 3-4 týždňov. Je preto dôležitá spolupráca s genetickými pracoviskami, ktoré sú kapacitne a odborné schopné diagnostiku v krátkom časovom intervale realizovať. Tieto genetické pracoviská musia mať personálne zabezpečenie s minimálne 5-ročnou praxou svojich expertov na diagnostiku, skúsenosťami v oblasti humánnej onkogenetiky a tiež disponovať adekvátnym prístrojovým vybavením.

ZOZNAM BIBLIOGRAFICKÝCH ODKAZOV

- [1] SINGER, C.F., et al. Genetic counselling and testing of susceptibility genes for therapeutic decision-making in breast cancer – an European consensus statement and expert recommendations. *European Journal of Cancer*. 2019; 106: 54-60.
- [2] CORTESI, L., COSTA A., et al. A rapid genetic counselling and testing in newly diagnosed breast cancer is associated with high rate of risk reducing mastectomy in *BRCA1/2* – positive Italian women. *Ann Oncol*. 2014; 25 (1): 57-63.
- [3] *Koncepcia zdravotnej starostlivosti Ministerstvo zdravotníctva SR č: S01260-OZS-2014 z 31.01.2014 v odbore lekárska genetika*. [online]. [cit. 2018-12-14]. <<http://www.sslg.sk/index>>

- php/dokumenty/metodicke-pokyny/53-koncepcia-zdravotnej-starostlivosti-v-odbore-lekarskagenetika>
- [4] RICHARDS, S., AZIZ, N., BALE, S., et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genetics in medicine*. 2015; 17 (5): 405-424.
- [5] CALÒ, V., BRUNO, L., LA PAGLIA, L., et al. The Clinical Significance of Unknown Sequence Variants in BRCA Genes. *Cancers (Basel)*. 2010; 2 (3): 1644-1660.
- [6] MORRIS, G.J., et al. *Assessing Genetic Variants of Uncertain Significance: The Example of Breast Cancer*. DOI: 10.1002/9780470015902.a0025220
- [7] HANSFORD, S., KAURAH, P., et al. Hereditary Diffuse Gastric Cancer Syndrome: CDH1 mutations and beyond. *Jama Oncol*. 2015; 1 (1): 23-32.
- [8] NQEOW, J., SESOCK, K., ENG, C. Breast cancer risk and clinical implications for germline PTEN mutation carriers. *Breast Cancer res treat*. 2017; 165 (1): 1-8.
- [9] MAI, P.L., BEST, A.F., et al. Risks of first and subsequent cancers among TP53 mutation carriers in the National Cancer Institute Li Fraumeni Syndrome cohort. *Cancer*. 2016; 122 (23): 3673-3681.
- [10] KING, M.C., MARKS, J.H., et al. Breast and ovarian cancer risks due to inherited mutations in BRCA1 and BRCA2. *Science*. 2003; 302 (5645): 643-646.
- [11] ZIKAN, M. *Hereditárni syndromy*. In: Cibula, D., Petruželka, L. (eds). *Onkogynekologie*. Praha: Grada, 2009: 614.
- [12] MENON, U., GRIFFIN, M., et al. Ovarian cancer screening-current status, future directions. *Gynecol Oncol*. 2014; 132 (2): 490-495.
- [13] SKATES, S.J., MAI, P., et al. Large prospective study of ovarian cancer screening in high-risk women: CA125 cut-point defined by menopausal status. *Cancer Prev Res*. 2011; 4 (9): 1401-1408.
- [14] VALENTIN, L., JURKOVIČ, D., et al. Adding a single CA 125 measurement to ultrasound imaging performed by an experienced examiner does not improve preoperative discrimination between benign and malignant adnexal masses. *Ultrasound Obstet Genecol*. 2009; 34 (3): 345-354.
- [15] ZIKAN, M. Gynekologická prevence a gynekologické aspekty péče u nosiček mutací genu BRCA1 a BRCA2. *Klin Onkol*. 2016; 29 (Suppl 1): S22-S30.
- [16] BEINER, M.E., ROSEN, B., et al. The risk of endometrial cancer in women with BRCA1 and BRCA2 mutations a prospective study. *Gynecol Oncol*. 2007; 104 (1): 7-10.
- [17] BURKE, E.E., PORTSCHY, P.R., TUTTLE, T.M. Prophylactic mastectomy: who needs it, when and why. *J Surg Oncol*. 2015; 111 (1): 91-95.
- [18] KUCHENBAECKER, K.B., HOPPER, J.L., et al. Risks of breast, ovarian and contralateral breast cancer for BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *J Am Med Assoc*. 2017; 317 (23): 2402-2416.
- [19] PETRÁKOVÁ, K., PALÁCOVÁ, M., et al. Syndrom hereditárního karcinomu prsu a ovarií. *Klin Onkol*. 2016; 29 (SUPPL 1): S14- S21.
- [20] *Odborné usmernenie Ministerstva zdravotníctva SR č: S10506-OZS-2014 z 8.12.2017 o štandardizácii genetickej diagnostiky syndrómu hereditárneho karcinómu prsníka a ovarií*. [online]. [cit. 2018-12-14]. URL: <http://www.sslg.sk/images/Dokumenty/OdborneUSM/OU_MZ_HBOC_updated_2017.pdf>.